

黄淮海夏玉米主产区穗腐病病原菌的分离鉴定

孙 华 张海剑 郭 宁 石 洁* 陈 丹 马红霞

(河北省农林科学院植物保护研究所, 农业部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室, 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 保定 071000)

摘要: 为明确我国黄淮海夏玉米主产区玉米穗腐病的病原菌种类、优势种群及虫害、年度、省份对病原菌的影响, 以形态学为基础, 结合分子生物学方法对2013、2015年随机采自河南、河北、山东3省的155份玉米穗腐病样品进行分离鉴定。结果表明, 引起黄淮海夏玉米主产区玉米穗腐病的主要致病菌为镰孢菌 *Fusarium* spp., 包括拟轮枝镰孢 *F. verticillioides*、禾谷镰孢 *F. graminearum*、层出镰孢 *F. proliferatum*、木贼镰孢 *F. equiseti* 及藤仓镰孢 *F. fujikuroi*, 分离频率分别为49.7%、28.4%、12.3%、3.9%和1.3%; 其次为木霉菌 *Trichoderma* spp., 包括哈茨木霉 *T. harzianum*、绿色木霉 *T. viride* 和棘孢木霉 *T. asperellum*, 分离频率分别为8.4%、3.2%和5.2%; 青霉菌 *Penicillium* spp. 分离频率较低, 为14.2%; 曲霉菌 *Aspergillus* spp. 包括黑曲霉 *A. niger* 和黄曲霉 *A. flavus*, 分离频率分别为2.6%和1.9%。研究表明, 黄淮海主产区玉米穗腐病优势病原菌为拟轮枝镰孢、禾谷镰孢和木霉菌, 不同省份不同年度间病原菌种类及优势病原菌存在差异, 虫害能加重玉米穗腐病的发生。

关键词: 穗腐病; 镰孢菌; 拟轮枝镰孢; 禾谷镰孢; 木霉菌

Isolation and identification of pathogens causing maize ear rot in Huang-Huai-Hai summer corn region

Sun Hua Zhang Haijian Guo Ning Shi Jie* Chen Dan Ma Hongxia

(IPM Centre of Hebei Province; Key Laboratory of IPM on Crops in Northern Region of North China, Ministry of Agriculture; Plant Protection Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Baoding 071000, Hebei Province, China)

Abstract: In order to confirm the pathogenic species, predominant population and the influence of pest, years and provinces on pathogens in maize ear rot in the Huang-Huai-Hai summer corn region, 155 samples of maize ear rot were collected randomly from Henan, Hebei and Shandong provinces in 2013 and 2015. The pathogens were isolated and identified from cankered maize ears with morphological and molecular methods. The results showed that some species of *Fusarium* spp., including *F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. equiseti* and *F. fujikuroi*, were the main pathogens causing the maize ear rot in Huang-Huai-Hai summer corn region, the isolation frequencies were 49.7%, 28.4%, 12.3%, 3.9% and 1.3%, respectively. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride* and *T. asperellum*, were the secondary pathogens, the isolation frequencies were 8.4%, 3.2% and 5.2%, respectively. The isolation frequencies of *Penicillium* spp. was 14.2%. *Aspergillus* spp. including *A. niger* and *A. flavus*, the isolation frequencies were 2.6% and 1.9%, respectively. The results indicated that *F. verticillioides*, *F. graminearum* and *Trichoderma* spp. were the main pathogens of Huang-Huai-Hai summer corn re-

基金项目: 国家现代农业(玉米)产业技术体系(CARS-02)

* 通讯作者 (Author for correspondence), E-mail: shij99@163.com

收稿日期: 2016-04-13

gion, there existed difference in the species of pathogens and dominant pathogen between different provinces and years, and pests could also aggravate the occurrence of maize ear rot.

Key words: ear rot; *Fusarium* spp.; *Fusarium verticillioides*; *Fusarium graminearum*; *Trichoderma* spp.

玉米穗腐病是玉米生长后期的重要病害,主要症状是玉米籽粒、穗轴或整个果穗霉变,湿度适宜时出现各色霉层,有时籽粒在穗内爆裂,爆裂处充满各色粉末(李高社,2006)。发霉的籽粒在收获后,由于含水量较高或贮藏不当等原因容易造成周围籽粒腐烂,进一步加重损失。已有研究结果表明,引起玉米穗腐病的病原菌已达40余种(段灿星等,2015),包括镰孢菌 *Fusarium* spp.、蠕孢菌 *Hel-minthosporium* spp.、青霉菌 *Penicillium* spp.、曲霉菌 *Aspergillus* spp. 和链格孢菌 *Alternaria* spp. 等(Mirzadi Gohari et al., 2008;王晓鸣等,2010;任旭,2011)。其中镰孢菌属为优势属,包括拟轮枝镰孢 *F. verticillioides*、禾谷镰孢 *F. graminearum*、层出镰孢 *F. proliferatum*、木贼镰孢 *F. equiseti*、变红镰孢 *F. incarnatum*、藤仓镰孢 *F. fujikuroi*、黄色镰孢 *F. culmorum*、茄镰孢 *F. solani* 和尖孢镰孢 *F. oxysporum* 等(周丹妮等,2016)。这些病原菌不仅对玉米产量造成直接损失,同时产生的毒素也对玉米的食品安全构成严重威胁。

国外多数研究认为拟轮枝镰孢和禾谷镰孢是玉米穗腐病致病菌的优势菌(Pérez-Brito et al., 2001; Ali et al., 2005; Robertson-Hoyt et al., 2006)。在国内的研究中,对不同省份玉米穗腐病优势种的调查结论不一,一般认为拟轮枝镰孢为优势菌(曲晓丽等,2009;任旭等,2012;郭成等,2014),该病原菌同时也是黄淮海夏玉米主产区穗腐病的主要病原菌(秦子惠等,2014)。但近年来,本课题组在田间调查时发现由其它病原菌引起的穗腐病呈上升趋势,给田间病害防治和抗性品种选育工作带来困扰。为此,本试验在穗腐病发生严重的2013年和2015年,对黄淮海夏玉米主产区河南、山东、河北3省玉米穗腐病的发生情况进行田间调查,同时随机采集病害标样进行病原菌分离,并结合形态学和分子生物学方法对分离到的菌株进行鉴定,明确本区域玉米穗腐病的病原菌种类、优势种群及其年度间差异,旨在为穗腐病综合治理和抗性品种选育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试玉米材料:2013年和2015年于玉米收获前,在田间调查的基础上,在河南省(鹤壁、漯河、周

口、南阳、安阳、新乡、驻马店7市)、山东省(德州、济宁、潍坊、青岛、枣庄、莱州市、临沂7市)、河北省(石家庄、衡水、沧州、唐山、保定、邢台6市)共20市38县采集到155份玉米穗腐病样本,其中2013年山东省34份、河南省30份、河北省32份,2015年山东省23份、河南省17份、河北省19份。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:土豆200 g、葡萄糖20 g、琼脂粉20 g,蒸馏水定容至1 000 mL。

试剂:真菌基因组DNA提取试剂盒,北京艾德莱生物科技有限公司;2×*Es Taq* Master Mix(含染料),北京康为世纪生物科技有限公司;Biowest Agarose G-10,南京生兴生物技术有限公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

仪器:东胜龙ETC-811 PCR仪,北京中科星宇科技发展有限公司;DYY-11型电泳仪,北京六一仪器厂;GelDoc XR+凝胶成像分析系统,美国Bio-Rad公司。

1.2 方法

1.2.1 玉米穗腐病及穗部虫害田间调查方法

2013年和2015年9月中下旬玉米收获前期,在黄淮海夏玉米主产区河南、河北和山东3省进行玉米穗腐病和穗部虫害调查。采用随机踏查方式,调查地块间相距50 km以上。每块地随机调查3个点,每2点间距离至少在50 m以上,每点调查100株,剥开玉米果穗调查并记录穗腐病发病情况和害虫为害情况。每块地采集1~2个典型穗腐果穗带回实验室,调查记录果穗上害虫种类及数量,并进行病原菌的分离鉴定。穗腐病发病率=病株数/调查总株数×100%;雌穗虫蛀率=害虫为害雌穗数/调查总株数×100%。

1.2.2 病原菌的分离与鉴定

每穗样品取病粒及其周围籽粒10粒,采用常规组织分离法进行病原菌分离(方中达,1998),对分离物进行纯化,获得单孢菌株后置于PDA培养基上,27℃黑暗条件下培养,待用。

根据在PDA培养基上的菌落形态、孢子的有无、大小、形态等特征,参考魏景超(1979)和方中达(1998)的方法对其进行初步鉴定。在形态学初步鉴

定的基础上,刮取 PDA 培养基上培养的真菌菌丝,加液氮研成粉末,用真菌基因组提取试剂盒提取菌株的基因组 DNA,将木霉、青霉、曲霉和其它未知真菌的基因组 DNA 用真菌通用引物 ITS1/ITS4(ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4: 5'-TCC-TCCGCTTATTGATATGC-3')(White et al., 1990) 进行 PCR 扩增,镰孢菌属分别用禾谷镰孢特异性引物 Fg16NF/Fg16NR (Fg16NF: 5'-ACAGATGACAAGA-TTCAGGCACA-3'; Fg16NR: 5'-TTCTTGACATCT-GTTCAACCCA-3') (Nicholson et al., 1998)、层出镰孢特异性引物 PRO1/PRO2 (PRO1: 5'-CTTCCGCCA-AGTTCTTC-3'; PRO2: 5'-TGTCAGTAACTCGAC-GTTGTTG-3') (Mulè et al., 2004) 和拟轮枝镰孢特异性引物 VER1/VER2 (VER1: 5'-CTTCCTGCGATGT-TTCTCC-3'; VER2: 5'-AATTGGCCATTGGTATTATATCTA-3') (Mulè et al., 2004) 扩增,扩增后无条带的再用镰孢菌延伸因子引物 EF1/EF2 (EF1: 5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3'; EF2: 5'-GGAR-GTACCAAGTSATCATGTT-3') (O'Donnell et al., 2008) 进行 PCR 扩增。

25 μL PCR 反应体系为:DNA 1 μL、10 μmol/L 上下游引物各 0.5 μL、*Taq* Mix 12.5 μL, 加 ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 反应程序为:95℃预变性 10 min; 95℃变性 1 min, 56℃退火 30 s(退火温度视引物而定), 72℃延伸 30 s, 35 个循环; 72℃延伸 10 min, 4℃保存扩增产物。产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳, 扩增出条带的 PCR 产物交由北京诺赛基因组研究中心测序, 测序结果在 NCBI 网站上进行 BLAST 比对。

1.2.3 虫害、年份和省份对穗腐病病原菌种类的影响

根据分离鉴定结果分别统计不同年份和不同省份穗腐病病原菌的种类,明确其在不同年度和省份间的种群组成和优势种。并统计采回果穗上的虫蛀率及病原菌混合侵染的比例,以明确穗部虫害对玉米穗腐病的影响。病原菌混合侵染频率=分离出相同病原菌种数的样穗数/样穗总数×100%;分离频率=病原菌检出数量/样品总数×100%。

1.3 数据分析

利用 Excel 2010 对试验数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 玉米穗腐病及虫害田间发生情况

2.1.1 玉米穗腐病田间发生情况

2013 年,黄淮海夏玉米主产区穗腐病发生普遍,田间随机调查发病率在 5.0%~100.0% 之间;其中河南

省发生最为严重,调查地块整体发病率平均为 11.4%,局部地区发病率较高,如浚县、长垣县、方城县、叶县、襄城县、兰考县等部分地块发病率达到 70.0% 以上;河北省冀中南区域发病较重,北部发生较轻,发病最重的地块在邯郸市和隆尧县,发病率分别为 63.3% 和 56.9%;山东省发病率较高,调查地块整体发病率 27.3%,其中德州市经济开发区、枣庄市峄城区发病较重,最重的地块发病率达 100.0%。2015 年穗腐病发病率在 1.0%~36.6% 之间,其中河南省发病较轻,调查地块发病率在 5.0% 以下,山东省和河北省穗腐病发病率较高,其中山东省兰陵县、莱州市、平度市和河北省沧县的调查地块发病率均高于 30.0%。

由于几种常见病原菌引起的穗腐病症状差异较大,在田间容易区分,调查时观察到由禾谷镰孢、拟轮枝镰孢、木霉、青霉和曲霉菌引起的穗腐病对产量造成的损失有很大差异。禾谷镰孢和木霉引起的穗腐病往往造成整个或者大部分果穗霉烂,发病率基本等同于产量损失率;拟轮枝镰孢、青霉和曲霉引起的穗腐病仅造成果穗部分籽粒霉烂,产量损失相对较小。

2.1.2 玉米雌穗虫害发生情况

本调查区域穗部虫害较重,在同一株玉米雌穗上,经常可以见到 2 种以上的害虫混合发生。2013 年果穗上的虫害发生比较严重,调查地块中玉米雌穗虫蛀率达到 65.7%,其中亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 占 41.4%、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 占 25.9%、桃蛀螟 *Dichocrocis punctiferalis* 占 11.4%、粘虫 *Mythimna separata* 占 3.0%,部分地块虫蛀率达到 70.0%~100.0%。2015 年穗部虫害整体较 2013 年轻,虫蛀率为 31.7%,其中玉米螟占 31.7%、桃蛀螟占 31.5%、棉铃虫占 28.1%。

2.2 病原菌的分离与鉴定

从 155 份样本中分离到 7 个属的 14 种真菌,经形态学和分子生物学方法鉴定为禾谷镰孢、拟轮枝镰孢、层出镰孢、木贼镰孢、藤仓镰孢、青霉菌、哈茨木霉 *T. harzianum*、棘孢木霉 *T. asperellum*、绿色木霉 *T. viride*、枝状枝孢 *Cladosporium cladosporioides*、*Sarocladium zeae*、嘴突脉孢 *Exserohilum rostratum*、黑曲霉 *A. niger*、黄曲霉 *A. flavus*。其中禾谷镰孢、拟轮枝镰孢、层出镰孢、绿色木霉、青霉、黑曲霉及黄曲霉为玉米穗腐病的常见病原菌;哈茨木霉、棘孢木霉、藤仓镰孢及木贼镰孢为不常见病原菌;其它 3 种真菌能否引起玉米穗腐病尚需按照柯赫氏法则将其回接验证,本文一并归于其它

类别,不作进一步分析。

2.3 虫害、年度和省份对病原菌种类的影响

2.3.1 雌穗虫害对玉米穗腐病的影响

调查时发现,有虫的果穗穗腐病发生较重。对样穗的室内调查结果进一步表明虫蛀率高的果穗上病原菌的分离种类较多。在山东省和河南省2013

年虫害发生较重,同时存在2种、3种甚至4种病原菌混合侵染的情况,而2015年山东省和河南省虫害发生较轻,样穗虫蛀率较低,病原菌种类比较单一,最多存在2种。河北省2年采集的样穗中虫蛀率相差不大,单一病原菌侵染比例较高,同时存在少量2种及3种病原菌混合侵染的现象(表1)。

表1 雌穗虫害对玉米穗腐病病原菌混合侵染的影响

Table 1 Influence of female ear pest on mixed infection of pathogens in maize ear rot

来源 Source	年份 Year	采样数 Number of samples	病原菌混合侵染频率 Mixed infection frequency of pathogens species				虫蛀率 Infested rate
			4种 Four	3种 Three	2种 Two	1种 One	
山东省 Shandong Province	2013	34	—	11.8	38.2	50.0	79.4
河南省 Henan Province	2015	23	—	—	—	100.0	13.0
河南省 Henan Province	2013	30	10.0	6.7	30.0	53.3	43.3
河北省 Hebei Province	2015	17	—	—	5.9	94.1	5.9
河北省 Hebei Province	2013	32	—	6.3	21.9	71.9	34.4
河北省 Hebei Province	2015	19	—	5.3	10.5	84.2	26.3

2.3.2 年度对玉米穗腐病病原菌的影响

2013年和2015年分别分离到13种和10种真菌,其中镰孢菌分别占94.8%和96.6%,为优势病原菌,其次为木霉属,分别占25.0%和3.4%。在分离出的5种镰孢菌中,拟轮枝镰孢2年中分离频率分别为53.1%和44.1%;禾谷镰孢分离频率为24.0%和35.6%;层出镰孢为15.6%和6.8%;木贼镰孢为1.0%和8.5%;藤仓镰孢为1.0%和1.7%。在分离出的3种木霉中哈茨木霉所占比例最高(图1)。

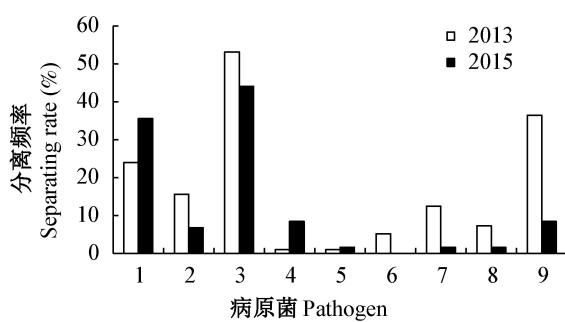


图1 不同年度间玉米穗腐病病原菌分离频率比较

Fig. 1 The isolation frequencies of maize ear rot pathogens in different years

1: 禾谷镰孢; 2: 层出镰孢; 3: 拟轮枝镰孢; 4: 木贼镰孢; 5: 藤仓镰孢; 6: 绿色木霉; 7: 哈茨木霉; 8: 棘孢木霉; 9: 其它。1: *F. graminearum*; 2: *F. proliferatum*; 3: *F. verticillioides*; 4: *F. equiseti*; 5: *F. fujikuroi*; 6: *T. viride*; 7: *T. harzianum*; 8: *T. asperellum*; 9: others.

2013年哈茨木霉分离频率为12.5%,其次为棘

孢木霉7.3%,绿色木霉分离频率最低为5.2%,2015年木霉总体分离频率较低,哈茨木霉和棘孢木霉均为1.7%,未见绿色木霉。

2.3.3 省份对玉米穗腐病病原菌的影响

在黄淮海夏玉米主产区,拟轮枝镰孢的分离频率最高(49.7%),其次为禾谷镰孢(28.4%)。青霉属、层出镰孢、哈茨木霉、棘孢木霉、木贼镰孢、绿色木霉、黑曲霉、黄曲霉和藤仓镰孢的分离频率依次降低,分别为14.2%、12.3%、8.4%、5.2%、3.9%、3.2%、2.6%、1.9%和1.3%(表2)。

拟轮枝镰孢、青霉菌及哈茨木霉的分离频率在3省间基本一致;禾谷镰孢、层出镰孢、木贼镰孢、棘孢木霉和绿色木霉的分离频率在省际间有明显差异,其中禾谷镰孢在河北省的分离频率最高,为54.9%,河南省次之,山东省仅为7.0%;层出镰孢在河南省的分离频率为27.7%,远高于山东省的7.0%和河北省的3.9%;木贼镰孢仅在山东省检测到;棘孢木霉和绿色木霉在山东省的分离频率也明显高于其它2个省。山东省玉米穗腐病病原菌中分离频率最高的为拟轮枝镰孢,分离频率为57.9%,其次为青霉菌和木贼镰孢,其它病原菌的分离比例均小于10.0%。河南省玉米穗腐病病原菌中分离频率最高的为拟轮枝镰孢48.9%,其次为禾谷镰孢和层出镰孢,分离频率分别为25.5%和27.7%。河北省禾谷镰孢的分离频率略高于拟轮枝镰孢,分别为54.9%和41.2%;其次为青霉菌(表2)。

表2 不同省份间玉米穗腐病病原菌分离频率

Table 2 The isolation frequencies of maize ear rot pathogens in different provinces

省份 Province	采样数量 Number of samples	% 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
山东省 Shandong Province	57	57.9	7.0	15.8	7.0	7.0	8.8	10.5	5.3	3.5	1.8	1.8	10.5
河南省 Henan Province	47	48.9	25.5	12.8	27.7	8.5	4.3	-	-	4.3	4.3	2.1	10.6
河北省 Hebei Province	51	41.2	54.9	13.7	3.9	9.8	2.0	-	3.9	-	-	-	-
合计 Total	155	49.7	28.4	14.2	12.3	8.4	5.2	3.9	3.2	2.6	1.9	1.3	7.1

1: 拟轮枝镰孢; 2: 禾谷镰孢; 3: 青霉属; 4: 层出镰孢; 5: 哈茨木霉; 6: 棘孢木霉; 7: 木贼镰孢; 8: 绿色木霉; 9: 黑曲霉; 10: 黄曲霉; 11: 藤仓镰孢; 12: 其它。1: *F. verticillioides*; 2: *F. graminearum*; 3: *Penicillium* spp.; 4: *F. proliferatum*; 5: *T. harzianum*; 6: *T. asperellum*; 7: *F. equiseti*; 8: *T. viride*; 9: *A. niger*; 10: *A. flavus*; 11: *F. fujikuroi*; 12: others.

3 讨论

本研究对黄淮海夏玉米主产区2013年和2015年的玉米穗腐病进行病原菌分离与鉴定,分离得到14种真菌,其中拟轮枝镰孢分离频率最高,其次为禾谷镰孢。拟轮枝镰孢在山东省的分离频率高于禾谷镰孢,为优势种;在河北省二者分离频率相当,禾谷镰孢略高于拟轮枝镰孢,二者均为优势种;在河南省拟轮枝镰孢的分离频率为48.9%,禾谷镰孢仅为25.5%,因此将轮枝镰孢菌作为黄淮海夏玉米主产区玉米穗腐病的优势病原菌,这与秦子惠等(2014)的研究结果一致。

本研究区域还分离出层出镰孢和少量的木贼镰孢及藤仓镰孢。层出镰孢主要引起玉米鞘腐病(徐秀德等,2008),黄思良等(2012)对南阳市玉米穗腐病的研究中发现,层出镰孢可以引起穗腐病,且是该地区穗腐病的主要致病菌;金社林等(2014)对玉米人工接种木贼镰孢,发病率达92.5%,证实该菌可以引起玉米穗腐病;藤仓镰孢是引起水稻恶苗病的优势菌之一(马晓伟,2012);张小飞等(2012)在玉米穗腐病病样中分离出该病原菌。国内外还有一些报道,亚黏团镰刀 *F. subglutinans* (Watson, 2007; Menniti et al., 2010)、花腐镰刀 *F. anthophilum* (Lawrence et al., 1981; Ellis, 1988)、温和镰孢 *F. temperatum* (Zhang et al., 2014a) 和新知镰孢 *F. andiyazi* (Zhang et al., 2014b) 也是玉米穗腐病的致病菌,本研究并未分离出这些病原菌,可能与病原菌的地域分布有关。

值得注意的是,木霉菌在本区域有较高的分离频率,包括哈茨木霉、棘孢木霉和绿色木霉。据Kumar & Shetty(1982)报道,印度玉米穗腐病是由绿色木霉引起的,任金平等(1995)也对该菌引起的穗腐

病进行过报道;张小飞等(2012)在西南地区的玉米穗腐病中也分离到了哈茨木霉和棘孢木霉。木霉菌引起农作物病害的研究较少,仅在食用菌和荸荠等少数作物上有报道(颜梅新等,2010;熊小龙,2011)。哈茨木霉、棘孢木霉和绿色木霉均为重要的木霉生防菌种,目前主要应用在土传真菌病害的防治中(Elad et al., 1980; 1981),其是否为本研究区域玉米木霉菌穗腐病的侵染来源及其对玉米的安全性如何有待进一步明确。

玉米穗部虫害与穗腐病相关性报道很多,谢敏(2011)和杨硕等(2015)认为穗部虫害可加重玉米穗腐病的发生,是造成病原菌侵染的重要途径,这与本研究结果一致。因此,防治玉米穗部虫害是减轻玉米穗腐病发生的重要途径。一直以来,玉米穗腐病都是我国玉米生产上的突出问题,严重影响我国玉米的产量和品质,甚至威胁到食用的安全性。拟轮枝镰孢在本研究区域虽然最为常见,但多造成粒腐,产量损失相对较小,而禾谷镰孢和木霉菌均会造成整个果穗和穗轴腐烂,产量损失较大,曲霉菌毒素虽然严重,但是在本研究区域发生较轻,因此在育种和防治工作中要重点关注禾谷镰孢穗腐病和木霉菌穗腐病。同时加强上述主要致病菌的生物学特性及侵染循环规律等的研究,为进一步筛选药剂、生防制剂和抗性品种提供依据,从而达到综合防治玉米穗腐病的目的。

参考文献 (References)

- Ali ML, Taylor JH, Jie L, Sun G, William M, Kasha KJ, Reid LM, Pauls KP. 2005. Molecular mapping of QTLs for resistance to *Gibberella* ear rot, in corn, caused by *Fusarium graminearum*. *Genome*, 48(3): 521–533
Duan CX, Wang XM, Song FJ, Sun SL, Zhou DN, Zhu ZD. 2015. Ad-

- vances in research on maize resistance to ear rot. *Scientia Agricultura Sinica*, 48(11): 2152–2164 (in Chinese) [段灿星, 王晓鸣, 宋凤景, 孙素丽, 周丹妮, 朱振东. 2015. 玉米抗穗腐病研究进展. 中国农业科学, 48(11): 2152–2164]
- Elad Y, Chet I, Henis Y. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry field by *Trichoderma harzianum*. *Plant and Soil*, 60 (2): 245–254
- Elad Y, Chet I, Katan J. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70(2): 119–121
- Ellis JJ. 1988. Section liseola of *Fusarium*. *Mycologia*, 80(2): 255–258
- Fang ZD. 1998. Research methods of plant disease (3rd edition). Beijing: China Agriculture Press, pp. 7–12 (in Chinese) [方中达. 1998. 植病研究方法(第3版). 北京: 中国农业出版社, pp. 7–12]
- Guo C, Wei HY, Guo MK, He SQ, Jin SL, Chen HM, Wang XM, Guo JG. 2014. Isolation, identification and biological characteristics of *Fusarium verticillioides* from maize ear rot samples in Gansu Province. *Acta Phytopathologica Sinica*, 44(1): 17–25 (in Chinese) [郭成, 魏宏玉, 郭满库, 何苏琴, 金社林, 陈红梅, 王晓鸣, 郭建国. 2014. 甘肃玉米穗腐病样品中轮枝镰孢菌的分离鉴定及生物学特性. 植物病理学报, 44(1): 17–25]
- Huang SL, Lu WH, Tao AL, Wu AB, Wang T. 2012. Structure analysis of *Fusarium* group causing maize ear rot in Nanyang City. *Journal of Nanyang Normal University*, 11(3): 54–57 (in Chinese) [黄思良, 卢维宏, 陶爱丽, 武爱波, 王坦. 2012. 南阳市玉米穗腐病致病镰刀菌种群结构分析. 南阳师范学院学报, 11(3): 54–57]
- Jin SL, Guo C, Wei HY, Guo MK, He SQ. 2014. Isolation, identification and biological characteristics of *Fusarium equiseti* from maize ear rot samples. *Acta Agrestia Sinica*, 22(1): 182–187 (in Chinese) [金社林, 郭成, 魏宏玉, 郭满库, 何苏琴. 2014. 玉米穗腐病样品中木贼镰孢菌的分离鉴定及生物学特性. 草地学报, 22(1): 182–187]
- Kumar V, Shetty HS. 1982. A new ear and kernel rot of maize caused by *Trichoderma viride* Pers ex Fries. *Current Science*, 51(12): 620–621
- Lawrence EB, Nelson PE, Ayers JE. 1981. Histopathology of sweet corn seeds and plants infected with *Fusarium moniliforme* and *F. oxysporum*. *Phytopathology*, 71(4): 379–386
- Li GS. 2006. The study on occurrence regularity and comprehensive control technology of maize ear rot. *Gansu Agricultural Science and Technology*, (8): 25–27 (in Chinese) [李高社. 2006. 玉米穗腐病发生规律及其综合防治技术研究. 甘肃农业科技, (8): 25–27]
- Ma XW. 2012. Molecular resistant mechanism of *Fusarium fujiluroi* against carbendazim. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [马晓伟. 2012. 藤仓镰孢菌对多菌灵抗药性的分子机制研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Menniti AM, Gregori R, Neri F. 2010. Activity of natural compounds on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production in stored maize kernels. *International Journal of Food Microbiology*, 136 (3): 304–309
- Mirzadi Gohari A, Javan-Nikkhah M, Hedjaroude GA, Abbasi M, Rah-
- joo V, Sedaghat N. 2008. Genetic diversity of *Fusarium verticillioides* isolates from maize in Iran based on vegetative compatibility grouping. *Journal of Plant Pathology*, 90(1): 113–116
- Mulè G, Susca A, Stea G, Moretti A. 2004. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5/6): 495–502
- Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees AK, Parry DW, Joyce D. 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53(1): 17–37
- O'Donnell K, Ward TJ, Aberra D, Kistler HC, Aoki T, Orwig N, Kimura M, Bjørnstad A, Klemsdal SS. 2008. Multilocus genotyping and molecular phylogenetics resolve a novel head blight pathogen within the *Fusarium graminearum* species complex from Ethiopia. *Fungal Genetics and Biology*, 45(11): 1514–1522
- Pérez-Brito D, Jeffers D, González-de-León D, Khairallah M, Cortés-Cruz M, Velázquez-Cardelás G, Azpíroz-Rivero S, Srinivasan G. 2001. QTL mapping of *Fusarium moniliforme* ear rot resistance in highland maize, Mexico. *Agrocencia*, 35(2): 181–196
- Qin ZH, Ren X, Jiang K, Wu XF, Yang ZH, Wang XM. 2014. Identification of *Fusarium* species and *F. graminearum* species complex causing maize ear rot in China. *Journal of Plant Protection*, 41(5): 589–596 (in Chinese) [秦子惠, 任旭, 江凯, 武小菲, 杨知还, 王晓鸣. 2014. 中国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定. 植物保护学报, 41(5): 589–596]
- Qu XL, Xu XD, Dong HY, Wang LJ, Jiang Y, Song YC, Gai SJ. 2009. Analysis of fungi species diversity on maize kernels. *Journal of Maize Sciences*, 17(6): 115–117 (in Chinese) [曲晓丽, 徐秀德, 董怀玉, 王丽娟, 姜钰, 宋艳春, 盖淑军. 2009. 玉米子粒携带真菌种群多样性分析. 玉米科学, 17(6): 115–117]
- Ren JP, Wu XL, Sun XH. 1995. A study on infection cycle of pathogen of corn ear rot and stalk rot in Jilin Province. *Journal of Maize Sciences*, 3(S1): 25–28 (in Chinese) [任金平, 吴新兰, 孙秀华. 1995. 吉林省玉米镰刀菌穗腐病和茎腐病病原菌传染循环研究. 玉米科学, 3(S1): 25–28]
- Ren X. 2011. Diversity analyses of *Fusarium* spp., the main causal agents of maize ear rot in China. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [任旭. 2011. 我国玉米穗腐病主要致病镰孢菌多样性研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Ren X, Zhu ZD, Li HJ, Duan CX, Wang XM. 2012. SSR marker development and analysis of genetic diversity of *Fusarium verticillioides* isolated from maize in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 45 (1): 52–66 (in Chinese) [任旭, 朱振东, 李洪杰, 段灿星, 王晓鸣. 2012. 轮枝镰孢SSR标记开发及在玉米分离群体遗传多样性分析中的应用. 中国农业科学, 45(1): 52–66]
- Robertson-Hoyt LA, Jines MP, Balint-Kurti PJ, Kleinschmidt CE, White DG, Payne GA, Maragos CM, Molnar TL, Holland JB. 2006. QTL mapping for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science*, 46(4): 1734–1743

- Wang XM, Shi J, Jin QM, Li X, Sun SX. 2010. The field manual of maize diseases and pests. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese) [王晓鸣, 石洁, 晋齐鸣, 李晓, 孙世贤. 2010. 玉米病虫害田间手册. 北京: 中国农业科学技术出版社]
- Watson A. 2007. *Fusarium* cob rot of corn. Primefact, 243: 1–2
- Wei JC. 1979. Fungal identification manual. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers (in Chinese) [魏景超. 1979. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社]
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. //Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press, pp. 315–322
- Xie M. 2011. Causal organisms and impact factors of corn ear rot and resistance of corn varieties to *Fusarium* ear rot in Sichuan. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [谢敏. 2011. 四川玉米穗腐病病原菌、影响因子及四川主栽品种对串珠镰刀菌的抗病性研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学]
- Xiong XL. 2011. A research of pathogenic *Trichoderma* of *Flammulina velutipes* in Sichuan and the analysis of resistance for *Flammulina velutipes* strains. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [熊小龙. 2011. 四川金针菇木霉病害的研究及金针菇菌株抗性分析. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学]
- Xu XD, Jing Y, Wang LJ, Dong HY, Hu L, Lü GZ, Liu ZH. 2008. Corn sheath rot: a new disease found in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 41(10): 3083–3087 (in Chinese) [徐秀德, 姜钰, 王丽娟, 董怀玉, 胡兰, 吕国忠, 刘志恒. 2008. 玉米新病害—鞘腐病研究初报. 中国农业科学, 41(10): 3083–3087]
- Yan MX, Liao WJ, Yuan GQ, Wei JG, Lai CY. 2010. Biological characteristics of *Trichoderma asperellum* caused rotted disease of Chinese water chestnut in storage. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 23(6): 1900–1904 (in Chinese) [颜梅新, 廖旺姣, 袁高庆, 韦继光, 赖传雅. 2010. 荸荠贮藏期腐烂病主要病原菌孢子霉生物学特性研究. 西南农业学报, 23(6): 1900–1904]
- Yang S, Shi J, Zhang HJ, Guo N, Li P, Wang ZY. 2015. Impact of duri- an fruit borer *Conogethes punctiferalis* on yield loss of summer corn by injury corn ears. *Journal of Plant Protection*, 42(6): 991–996 (in Chinese) [杨硕, 石洁, 张海剑, 郭宁, 李坡, 王振营. 2015. 桃蛀螟为害夏玉米果穗对产量的影响. 植物保护学报, 42(6): 991–996]
- Zhang H, Luo W, Pan Y, Xu J, Xu JS, Chen WQ, Feng J. 2014a. First report of *Fusarium temperatum* causing *Fusarium* ear rot on maize in northern China. *Plant Disease*, 98(9): 1273
- Zhang H, Luo W, Pan Y, Xu J, Xu JS, Chen WQ, Feng J. 2014b. First report of *Fusarium* ear rot of maize caused by *Fusarium andiyazi* in China. *Plant Disease*, 98(10): 1428
- Zhang XF, Zou CJ, Cui LN, Li X, Yang XR, Luo HH. 2012. Identification of pathogen causing maize ear rot and inoculation technique in southwest China. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 25(6): 2078–2082 (in Chinese) [张小飞, 邹成佳, 崔丽娜, 李晓, 杨晓蓉, 罗怀海. 2012. 西南地区玉米穗腐病病原分离鉴定及接种方法研究. 西南农业学报, 25(6): 2078–2082]
- Zhou DN, Wang XM, Li DD, Yang Y, Chen GK, Duan CX. 2016. Isolation and identification of *Fusarium* species causing maize ear rot in Chongqing and its vicinity. *Journal of Plant Protection*, 43(5): 782–788 (in Chinese) [周丹妮, 王晓鸣, 李丹丹, 杨洋, 陈国康, 段灿星. 2016. 重庆及周边地区玉米穗腐病致病镰孢菌的分离与鉴定. 植物保护学报, 43(5): 782–788]

(责任编辑:李美娟)